Aus der Hämatologisch-onkologischen Abteilung
(Leiter: Professor Dr. med. H. Gerhartz)
der Medizinischen Klinik und Poliklinik der
Freien Universität Berlin des Klinikums Westend
(Direktor: Professor Dr. med. G. A. Neuhaus)

DER EINFLUSS DES HYPOTONEN SCHOCKS AUF DIE ULTRASTRUKTUR MENSCHLICHER LEUKOCYTEN

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der ehem.
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

1970

vorgelegt von
Barbara Pattberg geb. Tharmann
aus Berlin

Aus der Hämatologisch - onkologischen Abteilung
(Leiter: Professor Dr.med.H. G e r h a r t z)
der Medizinischen Klinik und Poliklinik der Freien
Universität Berlin des Klinikums Westend
(Direktor: Professor Dr.med.G.A. N e u h a u s)

DER EINFLUSS DES HYPOTONEN SCHOCKS AUF DIE ULTRASTRUKTUR MENSCHLICHER LEUKOCYTEN

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
ehem.Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Barbara P a t t b e r g
geb.Tharmann
aus Berlin

Ehem.Dekan: Professor Dr.med.Hebert L a x

Referent: Professor Dr.med.Heinrich G e r h a r t z

Korreferent: Professor Dr.med.Willy S c h w a r z

Gedruckt mit Genehmigung der ehem.Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 16.11.197o

Meinen Eltern gewidmet

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546516_0010

DER EINFLUSS DES HYPOTONEN SCHOCKS AUF DIE ULTRASTRUKTUR MENSCHLICHER LEUKOCYTEN

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	PROBLEMSTELLUNG	1
II.	UNTERSUCHUNGSANORDNUNG UND METHODIK	2
	1. Entnahme und Anreicherung	2
	2. Fixierung	4
	3. Entwässerung und Einbettung	5
	4. Auswertung	6
III.	ERGEBNISSE	8
	1. Das endoplasmatische Retikulum einschließlich des Ergastoplasmas	8
	2. Der perinukleäre Raum	11
	3. Der Golgi - Apparat	14
	4. Die Mitochondrien	17
	5. Die Vakuolenbildung im Cytoplasma	21
	6. Die Pseudopodien	24
IV.	BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	30
V.	ZUSAMMENFASSUNG	35
VI.	ANHANG: Elektronenmikroskopische Aufnahmen	36
VII.	LITERATURVERZEICHNIS	47

I. PROBLEMSTELLUNG

Leukocytenkonzentrate aus dem peripheren menschlichen Blut enthalten neben den Leukocyten stets noch zahlreiche Erythrocyten. Dieser für viele Fragestellungen störende Erythrocytenanteil kann nach FALLON, FREI, DAVIDSON, TRIER und BURK (28) mit Hilfe eines hypotonen Schocks erheblich reduziert werden. Dabei nutzt man den Unterschied zwischen den roten und weißen Blutzellen in ihrer osmotischen Resistenz: Eine o,22 %ige NaCl-Lösung zerstört die Erythrocyten, soll jedoch bei einer Inkubationszeit von 3o sec bei der Mehrzahl aller Leukocyten weder funktionelle noch morphologisch erkennbare Zellalterationen auslösen. Als Vitalitätskriterien gelten dabei nach FALLON u.M. die normale Beweglichkeit der Leukocyten, ihre verminderte oder fehlende Anfärbbarkeit mit dem Vitalfarbstoff Trypanblau sowie ihre ungestörte Orotsäuredecarboxylierung, Atmung und Glykose. Die Beurteilung der Zellstrukturen erfolgte durch FALLON u.M. nach licht- und elektronenoptischen Kriterien, jedoch ohne Angaben über die Gesamtzahl und den Differenzierungstyp der untersuchten Leukocyten. Ihre Beurteilung der Ultrastruktur ist nicht unbestritten geblieben (88).
Ziel dieser Arbeit ist es, den Einfluß des hypotonen Schocks auf die Ultrastruktur der Leukocyten an einem größeren Zahlenmaterial zu objektivieren.

II. UNTERSUCHUNGSANORDNUNG UND METHODIK

Zur visuellen Beurteilung der Ultrastruktur der Leukocyten standen über 3ooo elektronenmikroskopische Präparate zur Verfügung, die in der Zeit von Juni 1966 bis Oktober 1968 in der Hämatologischen Abteilung der Medizinischen Universitätsklinik des Klinikums Westend angefertigt wurden. Den Tabellen liegen 242 elektronenoptische Photographien zugrunde.
Die Deutung der Ultrastruktur ist schwierig, weil bei der Herstellung eines elektronenmikroskopischen Präparates das biologische Gewebe erheblich beeinträchtigt wird; fehlende Referenzmethoden erschweren die Unterscheidung zwischen echten Strukturschäden und präparationsbedingten Artefakten. Unsere Versuchsanordnungen entsprachen bei der Separation denen von FALLON u.M. (28). Die elektronenmikroskopische Präparation wurde dem Erfahrungsgut der letzten Jahre entsprechend modifiziert (14,41,46,73).

1. Entnahme und Anreicherung

Normalblut von vier gesunden Personen wurde an verschiedenen Tagen mittels einer innen polierten und silikonisierten Flügelkanüle durch Venenpunktion gewonnen. Sämtliche Geräte, die im folgenden mit Blut in Berührung kamen, waren silikonisiert (Silikonöl Wacker AK 35o 3% in CCl_4 bei 25o°C einbrennen). Sofort nach der Entnahme wurde das Venenblut mit Hilfe eines Bündels dünner Holzstäbe durch ständiges Rühren defibriniert, wobei darauf zu achten war, daß die Stäbe die Wand des Gefäßes nicht berührten, um mechanische Alteration der Zellen zu vermeiden. Infolge der silikonisierten Glasoberfläche verlängerte sich die Defibrinierung auf 7 bis 9 min.

Zur Beschleunigung der Sedimentation (2,47,66,69,86, 89) wurde hochmolekulares Dextran (Molekulargewicht 25o ooo) 3% in physiologischer Kochsalzlösung zuge - setzt, wobei das Verhältnis Blut/Dextran entsprechend den Angaben von SKOOG und BECK(86) 4:1 betrug. Die Sedimentation der Erythrocyten erfolgte nach gründlichem Mischen in Zentrifugengläsern innerhalb von lo bis 3o min bei 4°C. Der Überstand wurde in spitze Zentrifugengläser überführt und bei 4°C und 15o x G 7 min lang zentrifugiert. Dabei sedimentierten die korpuskulären Bestandteile in folgender Reihenfolge: Der Bo - densatz enthielt überwiegend Erythrocyten, darüber lagen zunächst die Granulocyten, dann die Lymphocyten und zuoberst die Thrombocyten.

Aus der Leukocytenschicht wurden die Leukocyten mittels eines Teflonschlauches aspiriert und zu einem Teil zur Kontrollpräparation, zum anderen Teil für den hypotonen Schock gewonnen. Die Leukocytenkonzentrate wurden an - schließend in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert und unmittelbar danach zu je 2 ml (wie FALLON u.M.) in drei Versuchsreihen und zu 1 ml in einem weiteren Versuch verwandt. Jeder Ansatz wurde nach der schnellen Zugabe von 6 ml eisgekühltem Aqua dest.3o sec lang kräftig geschüttelt. Durch Zugabe von je 2 ml 3,5 %iger NaCl-Lösung zu jedem Ansatz gewannen die Leukocyten wieder physiologisches Milieu. Für die Untersuchungen mit dem hypotonen Schock benutzten wir drei Versuchsreihen mit einer Konzentration von o,22% NaCl (wie FALLON u.M.) und eine vierte Versuchsreihe mit einer Konzentration von o,13% NaCl.

Um sicher zu sein, daß unsere Ergebnisse nicht auf spezifischen Eigenschaften des untersuchten Blutes oder auf einer einmaligen Präparation beruhten, führten wir die Präparationen mit dem Blut von drei Blutspendern an drei verschiedenen Tagen bei der Verwendung der o,22 %igen NaCl-Lösung und mit dem Blut eines vierten Spen-

ders an einem anderen Untersuchungstag bei der Verwendung der o,13 %igen NaCl-Lösung durch. Dadurch ergaben sich in den aufgeführten Tabellen und Abbildungen die folgenden Bezeichnungen:
Bei der Versuchsreihe A wurde der hypotone Schock mit einer o,22 %igen Kochsalzlösung durchgeführt, wobei sich durch die drei Blutspender die Unterteilung in die Gruppen 1 bis 3 ergab. Bei der Versuchsreihe B wurde am Blut eines vierten Spenders der hypotone Schock mit einer o,13 %igen Kochsalzlösung durchgeführt (4). Die Ziffern 1 bis 4 gelten jeweils für die Versuchs(V)- und die entsprechenden Kontroll(K)-Reihen.

2. Fixierung

Die Fixierung der Leukocytenkonzentrate erfolgte bei 4°C nach einem Verfahren von BRETON-GORIUS (14) zunächst in Glutaraldehyd und anschließend in Osmiumsäure. Hierzu wurde das Untersuchungsmaterial in einem 1% Gemisch von Glutaraldehyd (rein dargestellt) (38) in EAGLEschem Medium (pH 7,4; 195 mosmol) suspendiert und anschließend in BEEM-Kapseln aus biologisch inertem Polyäthylen gelagert. Das Leukocytenkonzentrat wurde lo min lang in EAGLEscher Lösung gewaschen und anschließend mit Osmiumsäure (46) 1 Std.lang bei 4°C fixiert und hernach in Aqua dest. gewaschen.
Herstellung des Osmiumsäure-Phosphat-Puffers nach MILLONIG (46):

$NaH_2PO_4 \cdot H_2O$(2,26%)	83 ml
NaOH-Lösung (2,52%)	17 ml
Wasser	lo ml
Glukose	o,54 g
OsO_4	1,o g

3. Entwässerung und Einbettung

Die Dehydrierung der fixierten Leukocyten erfolgte in einer aufsteigenden Alkoholreihe von 5o%, 7o%, 96% für jeweils 15 min und anschließend zweimal in absolutem Alkohol bei Zimmertemperatur. Nach vollständigem Absaugen des Alkohols wurde das Sediment zweimal für 2o min mit Styrol, dann mit einem Styrol-Vestopal-Gemisch āā überschichtet und danach in Vestopal eingebettet (41). Die Einbettung erfolgte in Gelatine-Kapseln, da sich BEEM-Kapseln (Polyäthylen) im Gegensatz zu den Angaben des Herstellers gegenüber Vestopal (Polyester) als nicht beständig erwiesen. Hierzu wurde das Leukocytensediment auf den Boden der Gelatine-Kapseln gebracht, die dann mit Vestopal aufgefüllt und bei Zimmertemperatur 24 Std.lang gelagert wurden. Anschließend erfolgte über 24 Std. bei 6o°C die Polymerisation.

Mit dem LKB-Ultrotom wurden Schnitte von grau-silbergrauer Interferenzfarbe angefertigt, in destilliertem Wasser aufgefangen und auf mit Formvar befilmte Kupfernetze (74) aufgezogen. Nach kurzem Antrocknen erfolgte die Doppelkontrastierung nach VENABLE u.COGGESHALL (91), die einer vereinfachten REYNOLDSschen Methode (68) entspricht: 5 min lang Einwirkung von 5 %igem Uranylacetat, nach kurzer Zwischenwässerung Nachkontrastierung für 5 min mit Bleicitrat in einer feuchten Kammer, die zur Verhinderung der Bleicarbonatausfällung einen Zusatz von konzentrierter NaOH enthielt. Anschließend wurde das Bleicitrat mit NaOH und danach mit Aqua dest. abgewaschen.
Die elektronenoptische Untersuchung erfolgte am Elektronenmikroskop EM 9 Zeiss.

4. Auswertung

An den Leukocyten wurden beurteilt:

1. Das endoplasmatische Retikulum einschließlich des Ergastoplasmas
2. Der perinukläre Raum
3. Der Golgi - Apparat
4. Die Mitochondrien
5. Die Vakuolenbildung im Cytoplasma
6. Die Pseudopodien.

Die Beurteilung von Zellorganellen ist sicherlich nicht frei von einer subjektiven Bewertung durch den Untersucher und abhängig von seiner persönlichen Übung und Erfahrung. Dies betrifft besonders die Membransysteme des endoplasmatischen Retikulums und des Golgi - Feldes, da zwischen deren normalem Abstand und ihrer massiven Erweiterung fließende Übergänge bestehen (11,48,67,71,75). Veränderungen an der Feinstruktur der Mitochondrien (4,12,16,17,19,23,3o,33,45,5o,55,58,59,64,73,77,78,84, 85) sind besonders an den Cristae und der Matrix erkennbar, und zwar an den Cristae in Gestalt einer Schwellung, einer zahlenmäßigen Verminderung und einer Fragmentierung bis zu ihrem völligen Schwund oder an der Matrix in Gestalt einer Zusammenballung im Zentrum der Mitochondrien. Die Cristolyse in derartig veränderten Mitochondrien kann eine Vakuolenbildung vortäuschen, wenn die Schnittebene zufällig durch das Zentrum der Cristolyse führt. Zur vergleichenden Untersuchung wurden herangezogen:

1o9 Zellen der Kontrollversuche K (1 - 4)

55 Zellen der Versuchsreihe V (A 1 - 3) nach dem Schock mit einer o,22 %igen NaCl-Lösung und

78 Zellen des Versuchs V (B 4) nach dem Schock mit einer o,13 %igen NaCl-Lösung.

Wir ließen wegen ihrer geringen Zahl eosinophile und basophile Granulocyten aus der Betrachtung aus und beur-

teilten nur die neutrophilen Granulocyten, Monocyten und Lymphocyten. Da Granulocyten nur wenige und kleine Mitochrondrien enthalten, wurden sie zur Beurteilung der Mitochondrienveränderungen nicht mit einbezogen. Der Golgi - Apparat findet sich stets nur in einem eng umschriebenen Zellareal und damit nur in wenigen Ebenen angeschnitten: die Zahl der ausgewerteten Golgi-Zonen war daher relativ gering. Die Granula der neutrophilen Granulocyten haben wir nicht beurteilt, da sie nicht in zufriedenstellender Weise an allen Zellen reproduzierbar waren.

III. ERGEBNISSE

Die Ergebnisse der elektronenmikroskopischen Untersu - chungen an den isolierten Granulocyten, Lymphocyten und Monocyten sind als Übersicht in den folgenden Abschnitten in Form von Tabellen und Abbildungen dargestellt.

1. Das endoplasmatische Retikulum einschließlich des Ergastoplasmas (Abbildungen 8-17 im Anhang)

Die Membranen des endoplasmatischen Retikulums stehen mit dem Golgi - Apparat, der Zell- und der Kernmembran in Verbindung (9,13,65). Sie umschließen einen vom übrigen Cytoplasma abgegrenzten Raum und stellen ein ver - zweigtes Röhrensystem dar (2o). Man unterscheidet glatte und durch Aufliegen von Ribosomen rauhe, granuläre Membranen (1o,59,6O). Übergänge zwischen beiden Formen sind beschrieben worden (27,62,85). Die Ribosomen sind ribonukleinsäurehaltige Granula (1,1o). Cytoplasmazonen mit an RNS - Granula reichen Membransystemen treten bereits lichtmikroskopisch nach Anfärben als stark baso - phil (59) in Erscheinung. In den Ribosomen läuft vor allem die Proteinsynthese ab (4o,57,8o,81); den glatten Membranen kommen verschiedene Funktionen zu, wie Stofftransport, Entgiftung (36) und Beteiligung bei der Lagerung und beim Stoffwechsel des Cholesterins (29).

Morphologisch faßbare Veränderungen am endoplasmati - schen Retikulum zeigen fließende Übergänge von der Erweiterung und Aufschwellung über geordnete Vakuolenbildung (52) bis zu diffuser Einwässerung durch Auflösung oder Einreißen der Vakuolenmembran (11,67).
Wir beobachteten bei unseren Versuchen Erweiterungen des endoplasmatischen Retikulums von Granulocyten, Lymphocyten und Monocyten, ihr Anteil an der Gesamtzahl der bewerteten Leukocyten ist aus der Tabelle I ersichtlich.

Versuchsreihe A: mit o,22 % NaCl.

Spender	Zellarten	Versuchsreihe A a	b	c	d	Kontrollreihe K a	b	c	d
1	Granulocyten	10	5	3	2	3	2	0	1
	Lymphocyten	15	8	7	0	5	3	2	0
	Monocyten	4	4	0	0	2	2	0	0
2	Granulocyten	9	6	3	0	10	6	1	3
	Lymphocyten	4	2	2	0	20	14	6	0
	Monocyten	2	2	0	0	10	10	0	0
3	Granulocyten	2	2	0	0	3	2	1	0
	Lymphocyten	8	7	1	0	15	13	1	1
	Monocyten	1	0	1	0	3	3	0	0
Insgesamt		55	36	17	2	71	55	11	5

Versuchsreihe B: mit o,13 % NaCl.

Spender	Zellarten	Versuchsreihe B a	b	c	d	Kontrollreihe K a	b	c	d
4	Granulocyten	43	23	18	2	19	15	4	0
	Lymphocyten	21	4	14	3	9	2	7	0
	Monocyten	14	3	11	0	10	8	2	0
Insgesamt		78	30	43	5	38	25	13	0

Tab. I: Verhalten des endoplasmatischen Retikulums der Leukocyten nach einem hypotonen Schock.

a = Zahl der untersuchten Zellen
b = Zahl der als normal befundeten Zellen
c = Zahl der Zellen mit Erweiterung des endopl. Retikulum
d = Zahl der nicht beurteilbaren Zellen

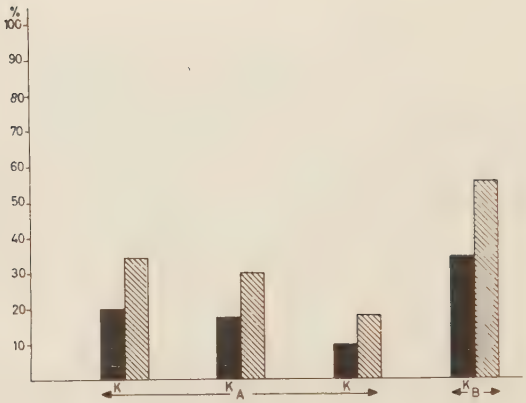

Abb.1: Prozentsatz der Leukocyten mit erweitert befundetem endoplasmatischen Retikulum bei den Versuchs- und Kontrollreihen der Gruppen A und B.

= Kontrollreihen
= Versuchsreihen nach hypotonem Schock.

Bei der Versuchsreihe A (1 bis 3) wurden nach Anwendung des hypotonen Schocks mit einer o,22 %igen NaCl-Lösung in 27,6 % der bewerteten Leukocyten und in den entsprechenden Kontrollen K (1 bis 3) in 15,7 % der Leukocyten Erweiterungen ihres endoplasmatischen Retikulums gefunden.

Die Leukocyten des Versuchs B zeigten nach Anwendung des hypotonen Schocks mit einer o,13 %igen NaCl-Lösung in 55,1 % und die entsprechenden Kontrollen K (4) in 34,2 % Erweiterungen ihres endoplasmatischen Retikulums (Abb.1).

2. Der perinukleäre Raum
(Abbildungen 11, 14-17 im Anhang)

Durch Poren der Kernmembran stehen Karyoplasma und Cytoplasma miteinander in Verbindung (7). Die Kernmembran stellt elektronenoptisch eine Doppelmembran dar, die den perinukleären Raum bildet (34,61). Dieser hat durch die Membranen des endoplasmatischen Retikulums mit der äußeren Zellmembran Verbindung (35) und dient dadurch dem Stofftransport zwischen dem Zellkern und der Umgebung der Zelle.
Wir beobachteten bei unseren Versuchen Leukocyten mit Erweiterungen ihres perinukleären Raumes, die zahlenmäßig in Tabelle II und prozentual in Abbildung 2 erfaßt werden.

Bei der Versuchsreihe A (1 bis 3) wurden nach Anwendung des hypotonen Schocks mit einer o,22 %igen NaCl - Lösung in 19,2% der bewerteten Leukocyten und in den entsprechenden Kontrollen K (1 bis 3) in o,8% der Leukocyten Erweiterungen ihres perinukleären Raumes gefunden.
Die Leukocyten des Versuchs B zeigten nach Anwendung des hypotonen Schocks mit einer o,13 %igen NaCl-Lösung in 55,1% und ihre entsprechenden Kontrollen K (4) in 15,8% Erweiterungen ihres perinukleären Raumes.

Versuchsreihe A: mit o,22 % NaCl.

		Versuchsreihe A				Kontrollreihe K			
Spender	Zellarten	a	b	c	d	a	b	c	d
1	Granulocyten	10	9	1	0	3	3	0	0
	Lymphocyten	15	13	2	0	5	5	0	0
	Monocyten	4	4	0	0	2	2	0	0
2	Granulocyten	9	7	1	1	10	10	0	0
	Lymphocyten	4	2	2	0	20	19	1	0
	Monocyten	2	2	0	0	10	10	0	0
3	Granulocyten	2	2	0	0	3	3	0	0
	Lymphocyten	8	5	3	0	15	15	0	0
	Monocyten	1	1	0	0	3	3	0	0
Insgesamt		55	45	9	1	71	70	1	0

Versuchsreihe B: mit o,13 % NaCl.

		Versuchsreihe B				Kontrollreihe K			
Spender	Zellarten	a	b	c	d	a	b	c	d
4	Granulocyten	43	17	26	0	19	17	2	0
	Lymphocyten	21	10	10	1	9	7	2	0
	Monocyten	14	7	7	0	10	8	2	0
Insgesamt		78	34	43	1	38	32	6	0

Tab.II: Verhalten des perinukleären Raums der Leukocyten nach einem hypotonen Schock.

a = Zahl der untersuchten Zellen
b = Zahl der als normal befundeten Zellen
c = Zahl der Zellen mit Erweiterung des perinukl.Raums
d = Zahl der nicht beurteilbaren Zellen

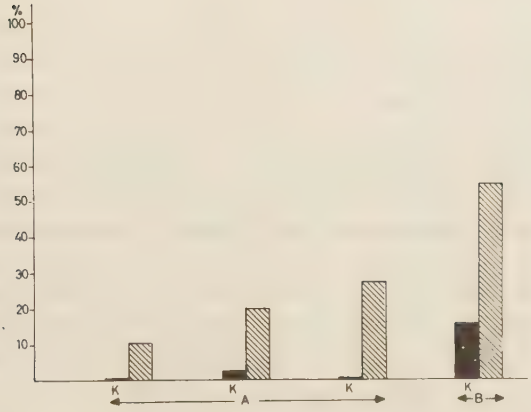

Abb.2: Prozentsatz der Leukocyten mit erweitert befundetem perinukleären Raum in den Versuchsreihen A und B im Vergleich zu den entsprechenden Kontrollreihen.

A = Versuchsreihen nach einem hypotonen Schock mit o,22% NaCl.
B = Versuchsreihe nach einem hypotonen Schock mit o,13% NaCl.

= Kontrollreihen

= Versuchsreihen

3. Der Golgi - Apparat

(Abbildungen 8-10, 14 im Anhang)

Der Golgi - Apparat ist in Kernnähe lokalisiert (25) und besteht elektronenoptisch aus parallel geschichteten, glatten Doppelmembranen, Vesikeln und Vakuolen verschiedener Größe und ist in die Golgi - Substanz eingebettet (24,26,42,83,85). Die geschichteten Mem - branpaare sind chromophil (43). Sie enthalten Poren und haben Verbindungen zum endoplasmatischen Retikulum (34,35). Die Vesikel entstehen durch Auseinanderdrängung der inneren Zwischenschicht eines Membranpaares. Der Golgi - Apparat erfüllt Aufgaben bei der Sekretbereitung, bei der Myelin-, Glykogen- sowie Triglyceridbildung und enthält verschiedene Enzyme (22,44,63,79).

Degenerative Vorgänge an der Zelle können zur Vergrößerung der Golgi - Zone, zur Vermehrung oder zum Schwund der Struktur des Golgi - Apparates oder auch zur Er - weiterung der Golgi - Membranabstände bis zu deren Vakuolisierung führen (75). Bei den 242 photographierten Leukocyten wurde in 137 Zellen die Golgi - Zone ange - schnitten, davon gehörten 63 Zellen zur Kontrollreihe K (1 bis 4), 34 Zellen zur Versuchsreihe A (1 bis 3) und 4o Zellen zum Versuch B (4). Die Tabelle III gibt eine zahlenmäßige Übersicht über die Ergebnisse, die Abbildung 3 stellt den prozentualen Anteil der Zellen mit erweitert befundetem Golgi - Apparat graphisch dar:

Bei der Versuchsreihe A (1 bis 3) wurden nach der Anwendung des hypotonen Schocks mit einer o,22 %igen NaCl-Lösung in 29,4% und bei dem Versuch B (4) nach Anwen - dung des hypotonen Schocks mit einer o,13 %igen NaCl - Lösung in 5o% der Leukocyten erweiterte Golgi - Stapel gefunden.

Die Leukocyten der zusammengefaßten Kontrollreihe K (1 bis 4) zeigten nur in 15,9% Erweiterungen ihres Golgi - Apparates.

	Kontrollreihe K			Versuchsreihe A			Versuchsreihe B		
Zellarten	a	b	c	a	b	c	a	b	c
Granulocyten	14	11	3	10	7	3	17	8	9
Lymphocyten	30	26	4	20	14	6	14	7	7
Monocyten	19	16	3	4	3	1	9	5	4

Tab. III: Verhalten des Golgi - Apparates der Leukocyten nach einem hypotonen Schock.

a = Zahl der untersuchten Zellen
b = Zahl der als normal befundeten Zellen
c = Zahl der Zellen mit Erweiterung des Golgi-Apparates

Versuchsreihe A: mit o,22% NaCl.

Versuchsreihe B: mit o,13% NaCl.

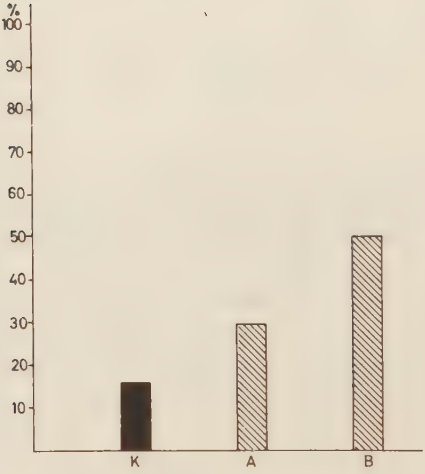

Abb.3: Prozentsatz der Leukocyten mit erweitert befundetem Golgi - Apparat bei den Versuchsreihen A (1 bis 3) und B (4) nach einem hypotonen Schock im Vergleich zu der Kontrollreihe K (1 bis 4).

A = Versuchsreihe nach einem hypotonen Schock mit o,22% NaCl.

B = Versuchsreihe nach einem hypotonen Schock mit o,13% NaCl.

= Kontrollreihe

= Versuchsreihen

DER EINFLUSS DES HYPOTONEN SCHOCKS AUF DIE ULTRASTRUKTUR MENSCHLICHER LEUKOCYTEN

4. Die Mitochondrien

(Abbildungen 9,10,12,13,15,16,17 im Anhang)

Die Mitochondrien sind Organzellen des Cytoplasmas, die in ihrer Lage, Form und Anzahl bei den verschiedenen Zellarten variieren. Sie sind von Doppelmembranen begrenzt (55,82,84). Die innere dunkle Hüllschicht dieser Membranen geht bei den Leukocyten des menschlichen Blutes (5,30) kontinuierlich in die äußere Schicht der kulissenartig im Innern der Mitochondrien angeordneten Cristae mitochondriales über. Außerdem gibt es Zellen mit Mitochondrien vom tubulären Typ (59) und Zellen, in denen beide Formen vorkommen (93). Die zwischen den Cristae bzw. Tubuli liegende Matrix oder Grundsubstanz ist der membranfreie Teil der Mitochondrien.

Die Mitochondrien sind die Zentren des oxydativen Stoffwechsels der Zellen. In Mitochondrienfraktionen konnten Enzyme (40,57,80,81), Stoffwechselprodukte des Citronensäurecyclus (8,18), Aminosäuren, Proteine (21) und Lipide (6) nachgewiesen werden.

Morphologische Veränderungen an den Mitochondrien sind von der Dauer und Schwere der Schädigung abhängig. Die Schwellung der Mitochondrien ist morphologisch erfaßbar. Dabei nehmen die länglichen Mitochondrien runde Formen an (52), die Matrix verliert ihre Dichte (19), die inneren Doppelmembranen schwellen und können sich bis zu ihrem völligen Schwund auflösen. Zugleich kann dichtes, homogenes Material (50) in den Mitochondrien erkennbar werden. Die Zahl der Cristae nimmt ab, wobei im Innern der Mitochondrien neben der vakuolären Umbildung nur noch eine granuläre Struktur erkennbar bleibt. Im End - stadium kommt es zur Verklumpung oder Vakuolisierung (23,72). Derartige Veränderungen sind beschrieben worden nach Hypoxie, Ischämie (16,17), Hunger (33), Vergiftungen (55) und osmotisch wirksamen Substanzen (76). Das isolierte Auftreten einer Schwellung der Mitochondrien ohne Granulierung, Verklumpung und Vakuolisierung kann nicht als beweisend für das Vorliegen eines degene-

rativen Prozesses angesehen werden, sondern ist möglicherweise nur Ausdruck einer Aktivitätssteigerung der Zellfunktionen (32,51).

Wir bewerten als Abweichung vom Normalen deutliche Zeichen einer Schwellung der Mitochondrien. Dabei wurden alle Übergangsstadien vom ersten Auseinanderweichen der Cristae mitochondriales über die Fragmentierung und Rarefizierung der Cristae bis zu wenigen Membranresten und die Verklumpung der Matrix erfaßt.
Nach der Anwendung des hypotonen Schocks mit einer o,22 %igen NaCl-Lösung trat bei 5o% (durchschnittlicher Wert der Versuchsreihe A) und nach Anwendung des hypotonen Schocks mit einer o,13 %igen NaCl-Lösung im Versuch B bei 77,1% der Leukocyten Mitochondrienschwellung auf. Die Leukocyten der Kontrollreihen (1 bis 4) zeigten durchschnittlich in 2o,9% Mitochondrienschwellungen.

		Versuchsreihe V			Kontrollreihe K		
	Spender	a	b	c	a	b	c
A	1	19	9	10	7	5	2
	2	6	3	3	30	25	5
	3	9	5	4	18	15	3
Insgesamt		34	17	17	55	45	10
B	4	35	8	27	19	15	4

Tab. IV: Verhalten der Mitochondrien von Leukocyten nach einem hypotonen Schock.

a = Zahl der untersuchten Zellen
b = Zahl der Zellen mit normal befundeten Mitochondrien
c = Zahl der Zellen mit Mitochondrienschwellung.

Versuchsreihe A: mit o,22 % NaCl.
Versuchsreihe B: mit o,13 % NaCl.

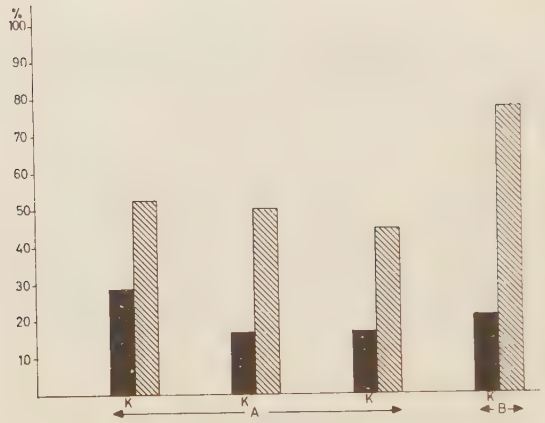

Abb.4: Prozentsatz der Leukocyten mit Mitochondrienschwellungen bei den Versuchsreihen A und B im Vergleich zu den entsprechenden Kontrollreihen K.

A = Versuchsreihen nach einem hypotonen Schock mit o,22% NaCl

B = Versuchsreihe nach einem hypotonen Schock mit o,13% NaCl

■ = Kontrollreihen

▨ = Versuchsreihen

5. Die Vakuolenbildung im Cytoplasma

(Abbildungen 10-14, 17 im Anhang)

Vakuolen gehören zum Paraplasma der Zellen. Ihr Inhalt wird beim Menschen von organischen flüssigen oder halbflüssigen Substanzen des Cytoplasmas gebildet und kann in Form von Granula, Tröpfchen, Körnchen oder Schollen vorliegen (7). Außerdem sind im elektronenmikroskopischen Schnittpräparaten vakuolig degenerierte Mitochondrien (23,72) und Membranen des endoplasmatischen Retikulums (48,52) sowie des Golgi - Apparates (75) als Vakuolen sichtbar. Bei entsprechender Schnittebene kann in Zellrandnähe durch die Pseudopodienbildung das Vorhandensein von Vakuolen vorgetäuscht werden. Eine eindeutige Differenzierung ist aus morphologischer Sicht nicht immer möglich. Wir verzichteten deshalb auf ihre Einordnung und zählten lediglich alle Zellen, in denen Vakuolen unabhängig von ihrer Lage und Größe angeschnitten waren.

Von 109 Kontrollzellen hatten 64 Zellen Vakuolen, von 55 Zellen der Versuchsreihe A (1 bis 3) zeigten 46 Zellen Vakuolen, und bei den 78 Zellen der Versuchsreihe B (4) waren es 70 Zellen (Tab.V).

Prozentual erhöhte sich somit die Zahl der Zellen mit Cytoplasmavakuolen von 58,7% bei den Kontrollzellen K (1 bis 4) auf 83,6%,bei der Versuchsreihe A (1 bis 3) nach dem hypotonen Schock mit 0,22% NaCl und auf 89,7% bei den Zellen der Versuchsreihe B (4) nach dem hypotonen Schock mit 0,13% NaCl (Abb.5).

		Versuchsreihe V		Kontrollreihe K	
	Spender	a	b	a	b
A	1	29	23	10	3
	2	15	14	40	26
	3	11	19	21	13
Insgesamt		55	46	71	42
B	4	78	70	38	22

Tab.V: Vakuolenbildung im Cytoplasma der Leukocyten nach einem hypotonen Schock.

a = Zahl der untersuchten Zellen
b = Zahl der Zellen mit Vakuolenbildung

Versuchsreihe A: mit o,22 % NaCl.
Versuchsreihe B: mit o,13 % NaCl.

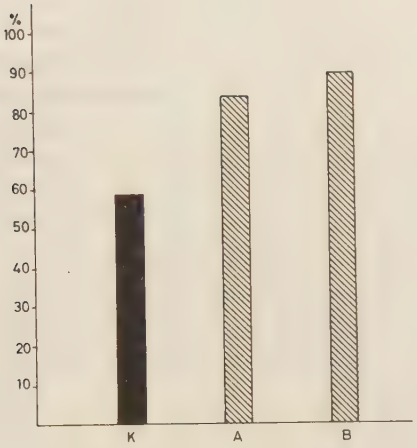

Abb.5: Prozentsatz der Leukocyten mit Vakuolenbildung im Cytoplasma bei der Kontrollreihe K (1 bis 4) im Vergleich mit den Versuchsreihen A und B nach einem hypotonen Schock.

A = Versuchsreihe nach einem hypotonen Schock mit o,22% NaCl .

B = Versuchsreihe nach einem hypotonen Schock mit o,13% NaCl.

= Kontrollreihe

= Versuchsreihen

6. Die Pseudopodien

(Abbildungen 8-11, 13-15 im Anhang)

Die Pseudopodien sind Protoplasmaausstülpungen beweglicher Zellen (7). Sie dienen der Phagocytose, d. h. der Aufnahme von Mikronen in das Zellinnere. Die Pseudopodienbildung ist bei vitalen Leukocyten regelmäßig anzutreffen und wird als ein Vitalitätskriterium angesehen (15). Die Zahl der Leukocyten, bei denen sich Pseudopodien nachweisen ließen, ist in Tabelle VI zusammengestellt. Es zeigten sich Pseudopodien bei 64,2% der Leukocyten der Kontrollreihen K (1 bis 4) und bei 61,8% der Leukocyten nach einem hypotonen Schock mit o,22% NaCl (Versuchsreihe A), jedoch nur in 41% der Zellen, die mit o,13 %iger NaCl-Lösung behandelt worden waren (Versuch B).
In der Abbildung 6 ist der prozentuale Anteil der Leukocyten mit Pseudopodien bei den Kontroll- und Versuchsreihen dargestellt.

		Versuchsreihe V		Kontrollreihe K	
	Spender	a	b	a	b
A	1	29	16	10	6
	2	15	10	40	34
	3	11	8	21	14
Insgesamt		55	34	71	54
B	4	78	32	38	16

Tab.VI: Pseudopodienbildung der Leukocyten nach einem hypotonen Schock.

a = Zahl der untersuchten Zellen
b = Zahl der Zellen mit Pseudopodien im Cytoplasma

Versuchsreihe A: mit o,22 % NaCl.
Versuchsreihe B: mit o,13 % NaCl.

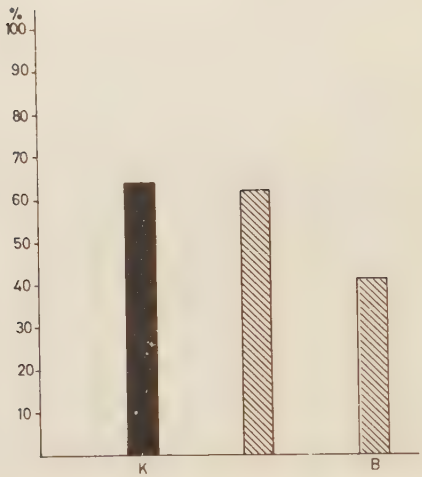

Abb.6: Prozentsatz der Leukocyten mit Pseudopodien im Cytoplasma bei den Versuchsreihen A und B im Vergleich zu der Kontrollreihe K (1 bis 4).

A = Versuchsreihe nach einem hypotonen Schock mit o,22% NaCl.
B = Versuchsreihe nach einem hypotonen Schock mit o,13% NaCl.

= Kontrollreihe

= Versuchsreihen

Eine Übersicht über die Zahlenverhältnisse aller in den Tabellen I bis VI beurteilten Zellstrukturen der untersuchten Leukocyten zeigen zusammenfassend die Tabellen VIIa und VIIb.
Der prozentuale Anteil der Zellen mit veränderten Strukturen, mit Vakuolen und Pseudopodien ist aus Abbildung 7 ersichtlich.

Gegenüber den Leukocyten der entsprechenden Kontrollreihen (= 100%) zeigte sich in den Versuchsreihen A eine Z u n a h m e der Leukocyten mit
Erweiterungen des endoplasmatischen Retikulums um 9,84%,
Erweiterungen des perinukleären Raumes um 10%,
Erweiterungen des Golgi - Apparates um 13,5%,
Mitochondrienschwellungen um 13,1%
und Vakuolen um 24,9%
sowie eine geringe A b n a h m e der Leukocyten mit Pseudopodien um 2,4%.

Gegenüber den Leukocyten der entsprechenden Kontrollreihen (= 100%) zeigte sich im Versuch B eine
Z u n a h m e der Leukocyten mit
Erweiterungen des endoplasmatischen Retikulums um 34%,
Erweiterungen des perinukleären Raumes um 49,7%,
Erweiterungen des Golgi - Apparates um 34,1%,
Mitochondrienschwellungen um 58,2%
und Vakuolen um 31%
sowie eine A b n a h m e der Leukocyten mit Pseudopodien um 23,2%.

	Endoplasmatisches Retikulum				Perinukleärer Raum				Golgi - Apparat			Mitochondrie		
	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	a	b	c
K(1-4)	1o9	8o	23	5	1o9	1o2	7	0	63	53	10	74	6o	1
A(1-3)	55	36	17	2	55	45	9	1	34	24	10	34	17	1
B (4)	78	3o	43	5	78	34	43	1	4o	2o	2o	35	8	2

Tab.VII a: Übersicht über die normalen und veränderten Befunde an allen beurteilten Strukturen der Leukocyten, die in der Versuchsreihe A einem hyptonen Schock mit o,22% NaCl und im Versuch B einem hypotonen Schock mit o,13% NaCl ausgesetzt waren, im Vergleich zu den Kontrollzellen K.

a = Zahl der bewerteten Leukocyten
b = Zahl der Leukocyten mit normal befundeten Strukturen
c = Zahl der Leukocyten mit veränderten Strukturen (Erweiterungen des endoplasmatischen Retikulums, des perinukleären Raums, des Golgi - Apparates und Schwellung der Mitochondrien)
d = Zahl der Leukocyten mit nicht beurteilbaren Strukturen

	Vakuolen		Pseudopodien	
	a	b	a	b
K(1-4)	1o9	64	1o9	7o
A(1-3)	55	46	55	34
B (4)	78	7o	78	32

Tab.VII b: Übersicht über die Leukocyten mit Vakuolen- und Pseudopodienbildung bei den Versuchsreihen A und B gegenüber den Kontrollreihen K.

a = Zahl der bewerteten Leukocyten
b = Zahl der Leukocyten mit Vakuolen bzw. Pseudopodien

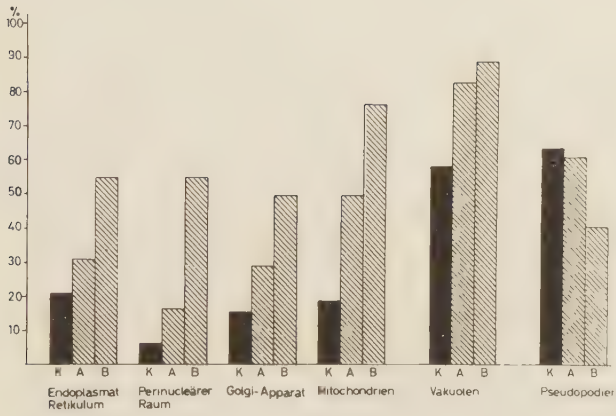

Abb.7: Prozentsatz der Zellen mit veränderten Strukturen und mit dem Auftreten von Vakuolen und Pseudopodien bei den Versuchsreihen A und B gegenüber den entsprechenden Kontrollreihen K.

Versuchsreihe A: mit o,22% NaCl.
Versuchsreihe B: mit o,13% NaCl.

■ = Kontrollreihen

▨ = Versuchsreihen

IV. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Die unterschiedliche Dichte der roten und weißen Blutzellen ermöglicht es, Leukocyten durch Sedimentation anzureichern. Neben den Dichteunterschieden ist auch das Partikelvolumen ein wesentlicher Parameter der Sedimentationsgeschwindigkeit (STOKESsches Gesetz). Daher erhöht sich mit zunehmender Größe des Zellaggregats auch seine Sedimentationsgeschwindigkeit. Kolloide wie Dextran (86), Polyvinylpyrrolidon (7o) und Fibrinogen (66) agglomerieren in Abhängigkeit von ihrem Molekulargewicht selektiv die Erythrocyten. Hierdurch erhöht sich die Differenz zwischen der Sedimentations - geschwindigkeit von Erythrocyten und Leukocyten. Das Ausmaß der Agglomeration sowie die aus ihr resultierende Anreicherung und Reinheit der Leukocyten im Überstand erhöht sich im allgemeinen mit steigendem Poly - merisationsgrad des verwandten Kolloids.
Da sich ein kleiner Prozentsatz Erythrocyten durch eine sehr geringe Dichte auszeichnet, die mit 1o6o unterhalb der mittleren Dichte der Granulocyten und Lymphocyten liegt, reichen die Methoden der Gravitation al - lein zur Gewinnung eines reinen Leukocytenkonzentrats nicht aus (31,9o,91). FALLON u.M. (28) konnten bei Anwendung des hypotonen Schocks mit Hilfe einer o,22 %igen NaCl-Lösung für 3o sec eine wesentliche Verringerung des Erythrocytenanteils im Leukocytenkonzentrat erzielen, ohne daß sie zugleich wesentliche morphologische Veränderungen an den separierten Leukocyten festzustellen vermochten. Dabei prüften sie auch die Ultrastruktur der Leukocyten hinsichtlich des endoplasmatischen Retikulums, der Mitochondrien, des Golgi - Apparates und der Granula sowie die Vakuolenbildung.
Weniger als 5% der dem hypotonen Schock ausgesetzten Leukocyten zeigten eine Vakuolisierung und Schwellung der Mitochondrien.

Bei unseren eigenen Untersuchungen an insgesamt 55 Leukocyten der Versuchsgruppe A, die dem hypotonen Schock unter ähnlichen Bedingungen ausgesetzt wurden, fanden wir deutlich tiefergreifende Veränderungen ihrer Ultrastruktur.

Die abweichend von FALLON u.M. angewandte kombinierte Fixierung mit Glutaraldehyd nach BRETON-GORIUS (14) gewährleistet im Gegensatz zur einfachen, aufgrund der Affinität zu den Lipoiden vornehmlich die Membranen darstellenden Fixierung mit Osmiumsäure eine wesentlich bessere Erhaltung des Zellproteins. Auf die in der Originalmethode beschriebene Streptokinase - Streptodornase - Behandlung konnte verzichtet werden, weil unsere morphologische Fragestellung keine Einzellagerung der Zellen im Schnittpräparat erforderte. Protektive Eigenschaften von Streptokinase - Streptodornase auf die Zellstruktur sind bisher in der Literatur nicht bekannt und daher als Ursache für die von uns gefundenen Abweichungen in den Resultaten unwahrscheinlich.

Es darf in Übereinstimmung mit FALLON u.M. als gesichert gelten, daß die in der Originalmethode verwandte o,22 %ige NaCl-Lösung keine vollständige Eliminierung aller Erythrocytenanteile ermöglicht. Wir führten daher auch Untersuchungen mit einer weiteren Verringerung des osmotischen Drucks durch: Die Inkubation in einer o,13 %igen NaCl-Lösung für 3o sec führte zu einem fast erythrocytenfreien Leukocytenkonzentrat; im elektronenmikroskopischen Präparat wurden nur noch vereinzelt Erythrocyten gefunden.

Bei den parallel zu den Versuchsreihen untersuchten Kontrollen wies stets ein geringer Anteil der Zellen ebenfalls Strukturveränderungen auf. Da nur beim aufwendigen MOORschen Gefrierätzverfahren (53,54) die Ultrastruktur der lebenden Zelle annähernd unversehrt dargestellt werden kann, muß die Frage offenbleiben, ob

die Veränderungen der Kontrollzellen als Ausdruck der physiologischen Zellalterung oder als präparativ bedingte Artefakte anzusehen sind. Versuchs- und Kontrollreihen sind unter gleichen Präparationsbedingungen durchgeführt worden. Es muß deshalb davon ausgegangen werden, daß nicht alle in den Versuchen festgestellten Strukturalterationen auf den hypotonen Schock zurückzuführen sind. Da sich jedoch im Vergleich mit den 109 photographisch dokumentierten Kontrollzellen in allen, dem hypotonen Schock ausgesetzten Präparationen an den verschiedenen Zellstrukturen regelmäßig häufiger Strukturatypien zeigten, erscheint es berechtigt, die beschriebenen Veränderungen der Zellstruktur im wesentlichen auf den hypotonen Schock zurückzuführen. Es ergeben sich keine Anhaltspunkte dafür, daß die von uns gefundenen Ergebnisse präparativ bedingt waren. Sowohl die Präparationen A (1 bis 3) als auch die Präparationen B (4) waren gegenüber den Kontrollen zusätzlich mechanischen Alterationen (Pipettieren, Schütteln) ausgesetzt, doch ergaben sich im Versuch B quantitativ und qualitativ stärker in Erscheinung tretende Veränderungen. Das Ausmaß der Atypien der Zellorganellen ohne Schock, nach dem Schock durch eine o,22 %ige NaCl-Lösung (Versuchsreihe A) und nach dem Schock durch eine o,13 %ige NaCl-Lösung (Versuch B) korreliert mit steigender Hypotonie. Veränderte Zellstrukturen zwischen dem Kontroll- und Versuchskollektiv sind daher nicht als zufallsbedingt anzusehen.

Veränderungen in der Feinstruktur der lebenden Zellen lassen ohne gleichzeitig durchgeführte biochemische Untersuchungen keine vollständige Aussage über ihren Funktionszustand zu. So sind Schwellung und Kontraktion der Mitochondrien aktive Vorgänge, die an biologische Leistungen der Mitochondrien gebunden sind. Bei der Schwellung wird ein umkehrbares Gleichgewicht erreicht, wobei enzymatische und morphologische Defekte vom Ausmaß der

Schwellung abhängen. Die Schwellung kann ein Relaxa - tionszustand der normalerweise kontrahiert vorliegenden Mitochondrien sein, wurde jedoch auch als Zeichen einer funktionellen Überbeanspruchung bei gesteigerter Eiweißresorption an Tubuluszellen beschrieben (32,51). Andererseits sind Mitochondrienschwellungen als Schädigung bei Experimenten mit atmungshemmenden Giften (48,49,5o), Thyroxinbehandlung (77), Hunger (33), Hypoxie und Strahlenbelastung (16,17) gewertet worden. Als irreversibel geschädigt wurden Mitochondrien beurteilt, die Verklumpung und vollständige Auflösung ihres Inhalts beobachten ließen (78). Dagegen sahen andere Autoren nach Wiederernährung die Regeneration von Mitochondrien, die zuvor bei experimentell durchgeführten Hungerversuchen hochgradige Vakuolisation gezeigt hatten (33).

Veränderungen an der normalen Struktur des Golgi - Apparates in Form von einer Vergrößerung und Vermehrung sind sowohl als funktionelle Hypertrophie (39,56), als auch als Antwort auf schädigende Einflüsse beschrieben worden (37).

Die Membransysteme sind je nach ihrem Funktionszustand Veränderungen unterworfen. Bei Hungerversuchen konnten beispielsweise eine Abnahme der Strukturen des endo - plasmatischen Retikulums und des Ergastoplasmas beob - achtet werden (11,67), aber auch Vesikelbildung (87) und Vakuolisation (64). Parallel zur Vakuolenbildung im endoplasmatischen Retikulum zeigte sich auch eine deutliche Abnahme der Cristae mitochondriales. Die regressiven Vorgänge an diesen Zellstrukturen waren nach Wiederernährung reversibel (92).

Aus den angeführten Beispielen geht bereits die Schwierigkeit der Deutung von morphologischen Veränderungen im elektronenoptischen Präparat hervor. Wir können daher nicht sagen, ob die von uns beobachteten Erweite - rungen des endoplasmatischen Retikulums, des Ergasto -

plasmas, des perinukleären Raums und des Golgi - Apparates, die Mitochondrienschwellung sowie die Zunahme der Vakuolenbildung und die Abnahme der Pseudopodienbildung als Schäden aufzufassen sind oder funktionelle Anpassungserscheinungen an die für Leukocyten unphysiologische Umweltbedingung einer Hypotonie darstellen.

Als Ergebnis unserer Untersuchungen können wir aber feststellen, daß eine annähernd erythrocytenfreie Anreicherung von Leukocyten mit der Methode eines hypotonen Schocks nur sinnvoll ist, wenn Veränderungen der Ultrastruktur der behandelten Leukocyten in Kauf genommen werden können.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Der hypotone Schock nach FALLON,FREI,DAVIDSON,TRIER und BURK (28) ermöglicht eine Reduzierung des Erythrocytenanteils im Leukocytenkonzentrat. Die Auswertung der elektronenmikroskopischen Aufnahmen ergab nach der Anwendung des hypotonen Schocks durch eine o,22 %ige NaCl-Lösung im Vergleich zu den Kontrollzellen eine Zunahme der Leukocyten, die Erweiterungen ihres endoplasmatischen Retikulums und ihres perinukleären Raums um etwa 1o%, ihres Golgi - Apparates um etwa 13%, Schwellungen ihrer Mitochondrien um etwa 3o% und eine Zunahme der Vakuolenbildung um etwa 25%, jedoch keine wesentlichen Änderungen in der Pseudopodienbildung aufwiesen.
Fast erythrocytenfreie Leukocytenkonzentrate konnten bei verstärkter Hypotonie durch eine o,13 %ige NaCl-Lösung erzielt werden. Wir beobachteten gegenüber den Kontrollzellen eine Zunahme der Leukocyten mit Erweiterungen der Membransysteme des endoplasmatischen Retikulums und des Golgi - Apparates um etwa 35%, des perinukleären Raums um etwa 5o%, eine Zunahme der Leukocyten mit Schwellungen der Mitochondrien um etwa 6o% und mit Vakuolen um etwa 3o% sowie eine Abnahme der Leukocyten mit Pseudopodien um etwa 25%. Im Vergleich zu den Kontrollzellen traten bei diesem Versuch erhebliche Veränderungen an den Leukocytenstrukturen auf.
Danach korreliert der Grad der morphologischen Veränderungen mit steigender Hypotonie. Ob dieser Befund als Schädigung oder als Anpassung der Leukocyten an ein unphysiologisches Milieu gedeutet werden muß, kann nur aufgrund von Funktionsprüfungen beurteilt werden. Eine abschließende Beurteilung ist allein nach morphologischen Gesichtspunkten nicht möglich.

Bei kritischer Berücksichtigung stellt der hypotone Schock ein wertvolles Verfahren dar, die Reinheit eines Leukocytenkonzentrats zu erhöhen.

VI. A N H A N G :

ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE AUFNAHMEN

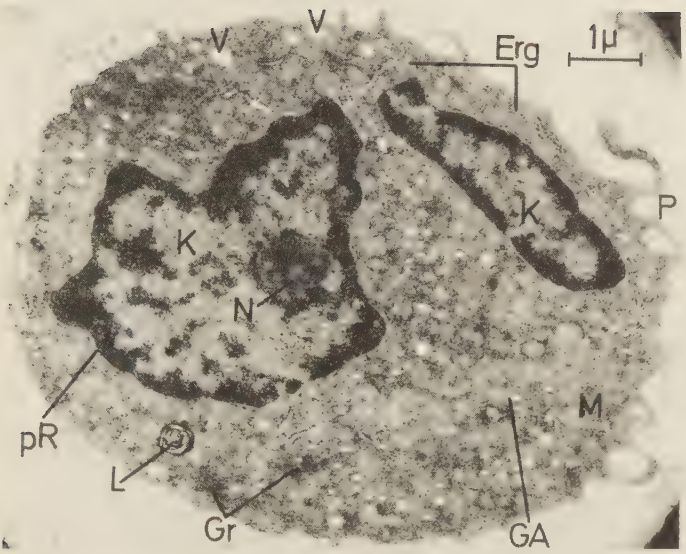

Abb.8: M o n o c y t aus dem peripheren menschlichen Blut der Kontrollreihe.

Erg = Ergastoplasma, GA = Golgi-Apparat,
Gr = Granula, K = Kern, L = Lysosom,
M = Mitochondrium, N = Nucleolus,
P = Pseudopodien, pR = perinukleärer Raum,
V = Vakuole.

Fixierung: Glutaraldehyd - Osmiumsäure.
Einbettung: Vestopal.
Kontrastierung: Uranylacetat - Bleicitrat.
Elektronenmikroskopische Aufnahme am EM 9 (Zeiss).
Vergrößerung: 13.ooofach

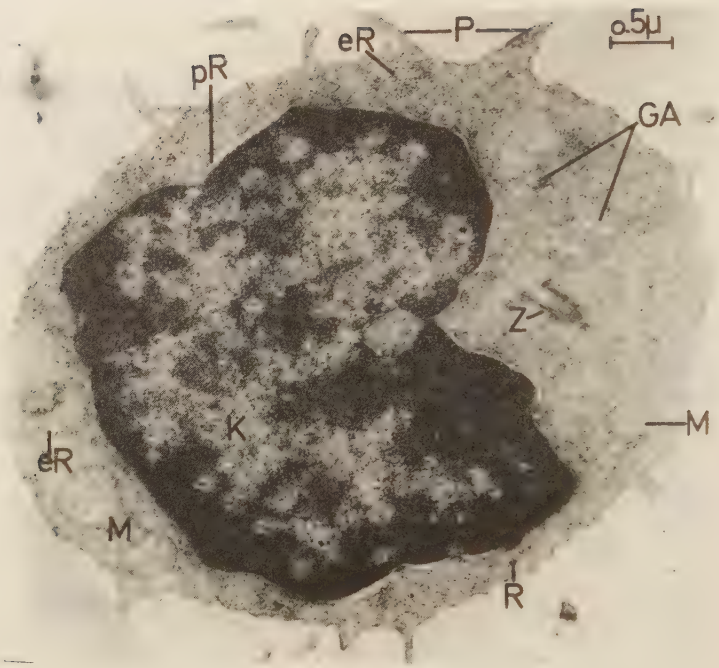

Abb.9 a: L y m p h o c y t aus dem peripheren menschlichen Blut der Kontrollreihe.

eR=endoplasmatisches Retikulum, GA = Golgi-Apparat, K = Kern, M = Mitochondrium, P = Pseudopodien, pR = perinukleärer Raum, R = Ribosomen, Z = Zentriol.

Fixierung: Glutaraldehyd - Osmiumsäure.
Einbettung: Vestopal.
Kontrastierung: Uranylacetat - Bleicitrat.
Elektronenmikroskopische Aufnahme am EM 9 (Zeiss)
Vergrößerung: 23.2oofach

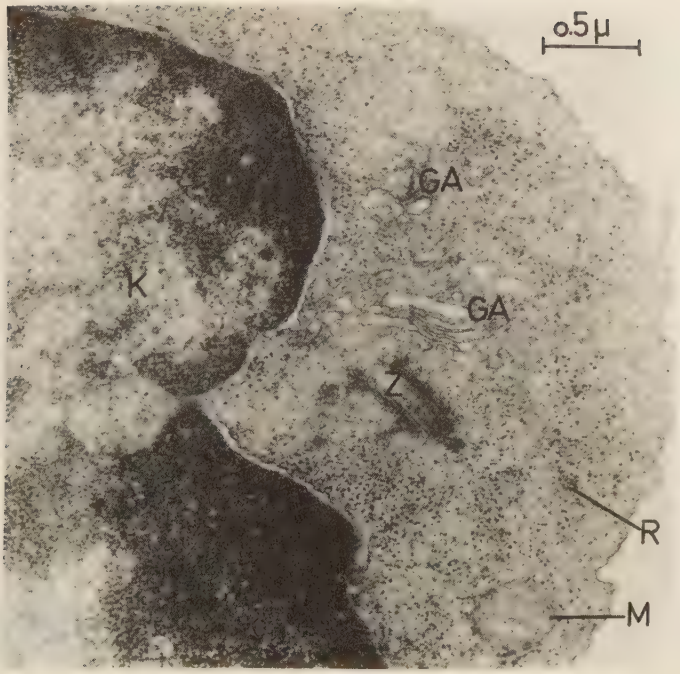

Abb.9 b: Ausschnittsvergrößerung aus Abb.9 a.

Der Golgi-Apparat läßt die parallel geschichteten, glatten Membranen, sacculi und Vesikel erkennen. Unter dem Golgi-Apparat liegt das Zentriol und darunter ein Mitochondrium mit geringer Schwellung.

GA = Golgi-Apparat, K = Kern, M = Mitochondrium, R = Ribosomen, Z = Zentriol.

Fixierung: Glutaraldehyd-Osmiumsäure.
Einbettung: Vestopal.
Kontrastierung: Uranylacetat-Bleicitrat.
Elektronenmikroskopische Aufnahme am EM 9 (Zeiss)
Vergrößerung: 38.ooofach.

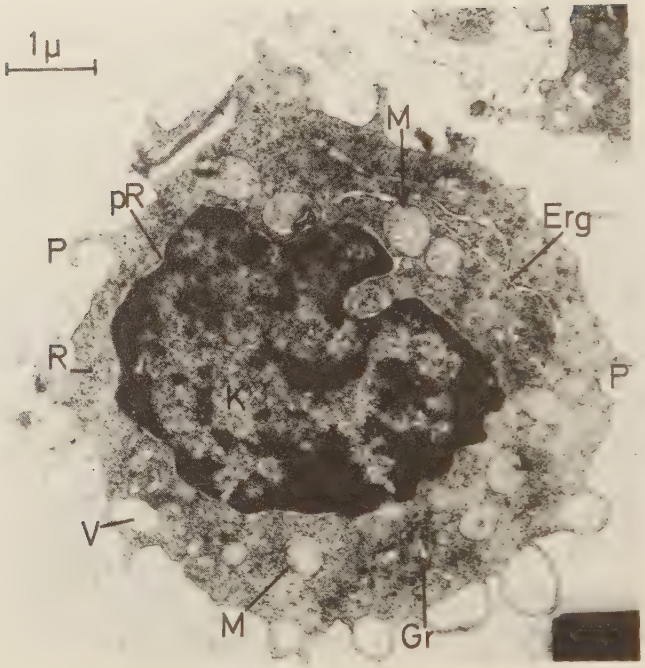

Abb.10: M o n o c y t aus dem peripheren menschlichen Blut der Kontrollreihe.

Das mit einem Pfeil gekennzeichnete Mitochondrium hat regulär angeordnete Cristae, die anderen Mitochondrien zeigen Schwellung, Rarifizierung und Fragmentierung ihrer Cristae, zwei Mitochondrien liegen in Vakuolen.

Erg = Ergastoplasma, Gr = Granula, K = Kern, M = Mitochondrium, P = Pseudopodien, pR = perinukleärer Raum, R = Ribosomen, V = Vakuole.

Fixierung: Glutaraldehyd-Osmiumsäure.
Einbettung: Vestopal.
Kontrastierung: Uranylacetat-Bleicitrat.
Elektronenmikroskopische Aufnahme am EM 9 (Zeiss)
Vergrößerung: 17.200fach.

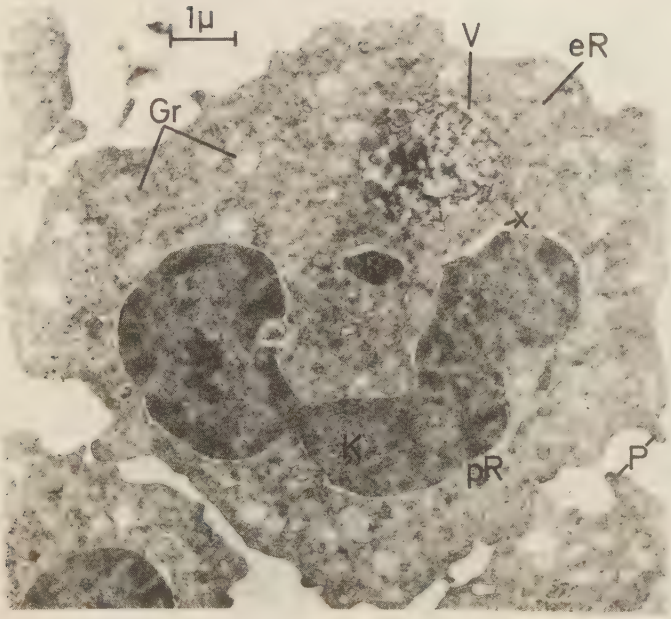

Abb.11: N e u t r o p h i l e r G r a n u l o c y t aus dem peripheren menschlichen Blut nach einem hypotonen Schock (o,22% NaCl).

Im Plasma der Zelle ist eine große Einschlußvakuole erkennbar, die Granula sind z.T.stark aufgelockert, der perinukleäre Raum und das endoplasmatische Retikulum sind erweitert.

eR = endoplasmatisches Retikulum Gr = Granula, K = Kern, P = Pseudopodien, X = Übergang der äußeren Membran des perinukleären Raums in das endoplasmatische Retikulum, V = Einschlußvakuole.

Fixierung: Glutaraldehyd-Osmiumsäure.
Einbettung:Vestopal.
Kontrastierung: Uranylacetat-Bleicitrat.
Elektronenmikroskopische Aufnahme am EM 9(Zeiss).
Vergrößerung: 12.4oofach

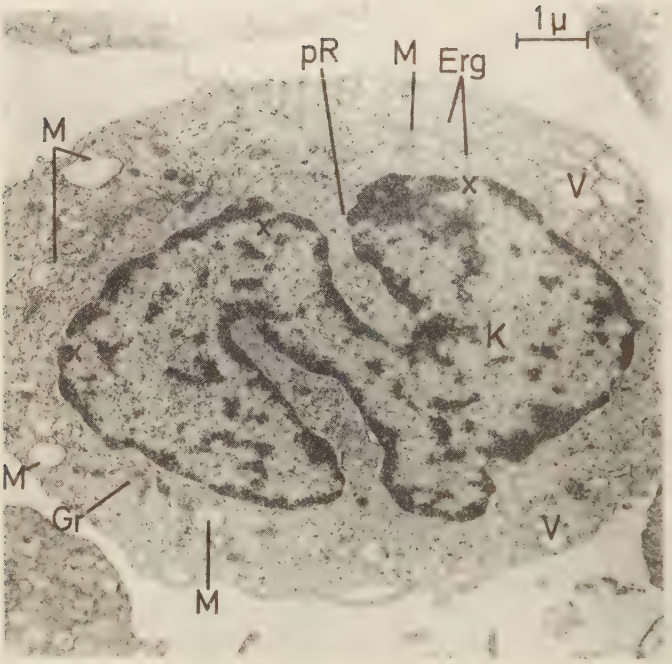

Abb.12: M o n o c y t aus dem peripheren menschlichen Blut nach einem hypotonen Schock(o,22% NaCl).

Der perinukleäre Raum und das Ergastoplasma sind erweitert. Die meisten Mitochondrien zeigen Schwellung, Rarifizierung und Fragmentierung der Cristae, beginnende Vakuolenbildung oder Granulierung durch Verklumpung der Matrix. Eine beginnende Entmischung des Plasmas wird sichtbar.

Erg = Ergastoplasma, Gr = Granula, K = Kern, M = Mitochondrium, pR = perinukleärer Raum, X = Poren in der Kernmembran, V = Vakuolen.

Fixierung: Glutaraldehyd-Osmiumsäure.
Einbettung:Vestopal.
Kontrastierung: Uranylacetat-Bleicitrat.
Elektronenmikroskopische Aufnahme am EM 9 (Zeiss)
Vergrößerung: 14.ooofach.

Abb.13: M o n o c y t aus dem peripheren menschlichen Blut nach einem hypotonen Schock (o,22% NaCl).

Im Plasma der Zelle erkennt man eine ausgeprägte Vakuolenbildung, geschwollene Mitochondrien und Erweiterungen des endoplasmatischen Retikulums. Der perinukleäre Raum ist an der mit einem Pfeil gekennzeichneten Stelle erweitert, was als Artefakt gedeutet werden kann.

eR = endoplasmatisches Retikulum, Gr = Granula, K = Kern, M = Mitochondrium, P = Pseudopodien, pR = perinukleärer Raum, R = Ribosomen, V = Vakuole.

Fixierung: Glutaraldehyd-Osmiumsäure.
Einbettung: Vestopal.
Kontrastierung: Uranylacetat-Bleicitrat.
Elektronenmikroskopische Aufnahme am EM 9 (Zeiss).
Vergrößerung: 14.ooofach.

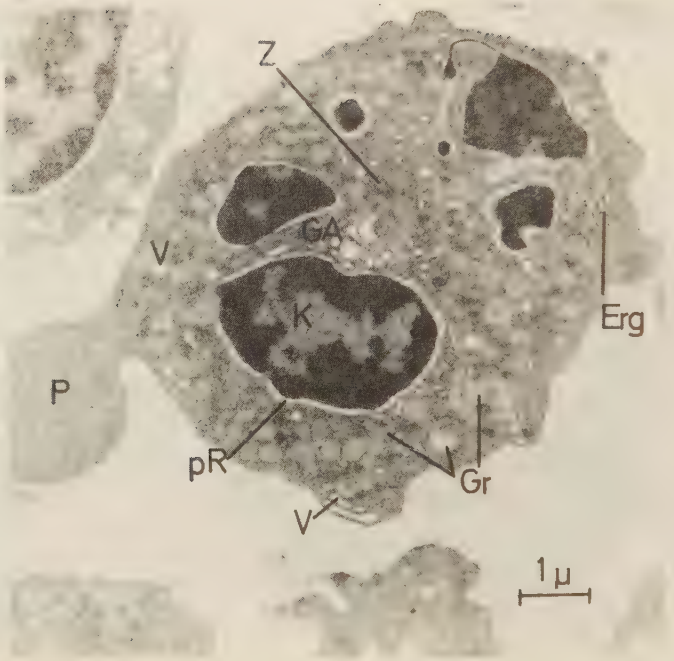

Abb.14: N e u t r o p h i l e r G r a n u l o c y t aus dem peripheren menschlichen Blut nach einem hypotonen Schock (o,13% NaCl).

Man erkennt Erweiterungen des perinukleären Raums, des Ergastoplasmas und des Golgi-Apparates. Die Granula sind z.T.aufgelockert.

Erg = Ergastoplasma, GA = Golgi-Apparat, Gr = Granula, K = Kern, P = Pseudopodien, pR = perinukleärer Raum, V = Vakuole, Z = Zentriol.

Fixierung: Glutaraldehyd-Osmiumsäure.
Einbettung:Vestopal.
Kontrastierung: Uranylacetat-Bleicitrat.
Elektronenmikroskopische Aufnahme am EM 9 (Zeiss)
Vergrößerung: 14.ooofach.

Abb.15: L y m p h o c y t aus dem peripheren menschlichen Blut nach einem hypotonen Schock (o,13% NaCl).

Die Mitochondrien zeigen Rarifizierung der Cristae und Schwellung. Der perinukleäre Raum ist an der mit einem Pfeil gekennzeichneten Stelle erweitert. Erweiterungen des endoplasmatischen Retikulums werden deutlich sichtbar.

eR = endoplasmatisches Retikulum, GA = Golgi-Apparat, K = Kern, M = Mitochondrium, N = Nucleolus, P = Pseudopodien, pR = perinukleärer Raum, R = Ribosomen.

Fixierung: Glutaraldehyd-Osmiumsäure.
Einbettung: Vestopal.
Kontrastierung: Uranylacetat-Bleicitrat.
Elektronenmikroskopische Aufnahme am EM 9 (Zeiss).
Vergrößerung: 19.600fach.

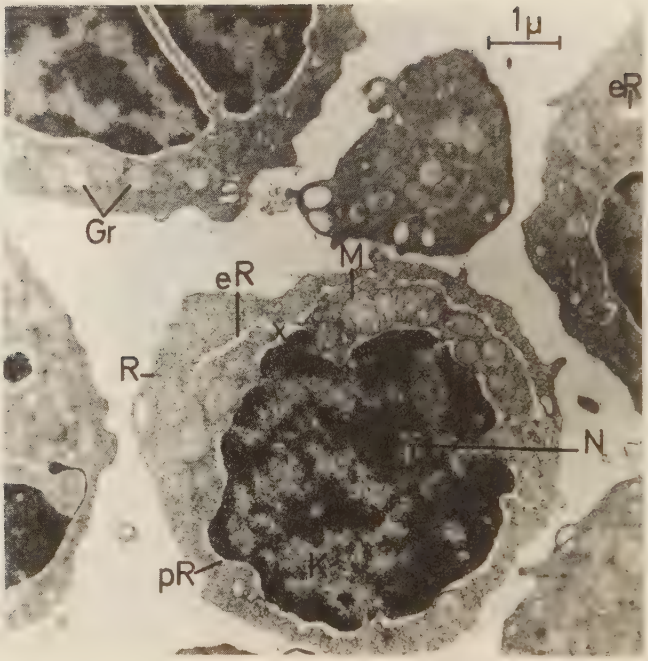

Abb.16: L y m p h o c y t und n e u t r o p h i l e G r a n u l o c y t e n aus dem peripheren menschlichen Blut nach einem hypotonen Schock (o,13% NaCl).

Der perinukleäre Raum und das endoplasmatische Retikulum sind erweitert. Die Mitochondrien zeigen Rarifizierung der Cristae. Die Granula der Granulocyten sind aufgelockert.

eR = endoplasmatisches Retikulum, Gr = Granula, K = Kern, M = Mitochondrium, N = Nucleolus, R = Ribosomen, pR = perinukleärer Raum, X = Übergang des perinukleären Raums in das endoplasmatische Retikulum.

Fixierung: Glutaraldehyd-Osmiumsäure.
Einbettung: Vestopal.
Kontrastierung: Uranylacetat-Bleicitrat.
Elektronenmikroskopische Aufnahme am EM 9 (Zeiss).
Vergrößerung: 14.ooofach.

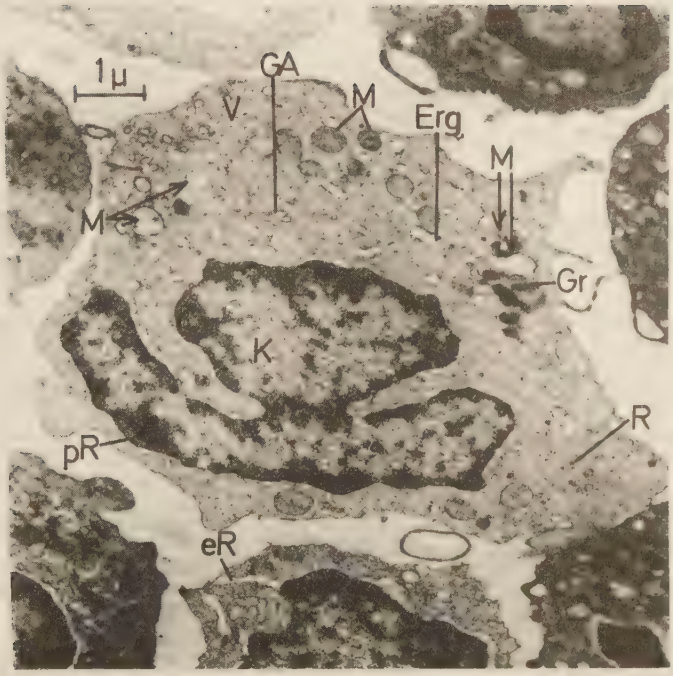

Abb.17: M o n o c y t aus dem peripheren menschlichen Blut nach einem hypotonen Schock (o,13% NaCl).

An den mit einem Pfeil gekennzeichneten Mitochondrien sind die Verklumpung der Matrix, Fragmentierung der Cristae bzw.Vakuolisation erkennbar. Der perinukleäre Raum und das endoplasmatische Retikulum sind erweitert. Die parallele Schichtung der Golgi-Membranen ist gut sichtbar. Die Zelle hat dichte Granula.

eR = endoplasmatisches Retikulum, Erg = Ergastoplasma, GA = Golgi-Apparat, Gr = Granula, K = Kern, M = Mitochondrium, pR = perinukleärer Raum, R = Ribosomen, V = Vakuole.

Fixierung: Glutaraldehyd-Osmiumsäure.
Einbettung:Vestopal.
Kontrastierung: Uranylacetat-Bleicitrat.
Elektronenmikroskopische Aufnahme am EM 9 (Zeiss).
Vergrößerung: 14.ooofach.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

1. AFZELIUS,B.A. : Electronmicroscopy on the basophilic structure of the sea urchin egg. Z.Zellforsch. 45: 66o (1957)

2. AGRANOFF,B.W., B.L.VALLEE a. D.F.VAUGH : Centrifugal substraction of polymorphonuclear leukocytes, lymphocytes and erythrocytes. Blood 9: 8o4 (1954)

3. ALLFREY,V. : The isolation of subcellular components. In: Brachet a.Mirsky: The Cell. Academic Press, New York-London 1959

4. ANDERSON,D.R. : Ultrastructure of normal and leucemic leukocytes in human peripheral blood. J.Ultrastruct.Res.Supp. 9: 1 (1966)

5. ANDERSSON-CEDERGREN,E.: Ultrastructure of motor endplate and sarcoplasmic components of mouse skeletal muscle fiber as revealed by three-dimensional reconstructions from serial sections. J.Ultrastruct.Res. 1: 5 (1959)

6. BALL,E.G. a. C.D.JOEL : The composition of the mitochondrial membrane in relation to its structure and function. Int.Rev.Cytol. 13: 99 (1962)

7. BARGMANN,W. : Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen. Georg Thieme, Stuttgart 1962

8. BELLAMY,D. : The endogenous citric acid-cycle intermediates and amino acids of mitochondria. Biochem.J. 82: 218 (1962)

9. BERNHARD,W. : Problèmes de la cytologic electronique de haute résolution. Bull.Micr.appl. 5: 12 (1955)

10. BERNHARD,W., A.GAUTIER et Ch.ROUILLER : La notion de "microsomes" et le problème de la basophilie cytoplasmique. Étude critique et expérimentale. Arch.Anat.micr.Morph.exp. 43: 236 (1954)

11. BERNHARD,W. F.HAGUENAU, A.GAUTIER et Ch.OBERLING : La structure submicroscopique des éléments basophiles cytoplasmiques dans le foie, le pancreas et les glandes salvivaires. Z.Zellforsch. 37: 281 (1952)

12. BESSIS,M. : Cytology of the blood and blood forming organs, p.388 Grume u.Stratton,New York 1956

13. BRAUNSTEINER,H., K.FELLINGER a. F.PAKESCH : Electron microscopic investigations on sections from lymph nodes and bone marrow in malignant blood deseases. Blood 12: 278 (1957)

14. BRETON-GORIUS,J. : Periodic structures in the eosinophil and neutrophil granulations of the polynuclear leukocytes of human blood. Nouv.Rev.Franc.Hemat.6: 195(1966)

15. BRYANT,R.E., R.M.DES PREZ, M.H.VAN WAY a. E.ROGERS : Studies on human leukocyte motility. I.Effects of alteration and phagocytosis on leukocyte migration, adhaesiveness and aggregation. J.exp.Med.124: 483 (1966)

16. BRYANT,R.E., W.A.THOMAS a. R.M.O'NEAL : An electron microscope study of myocardial ischemia in the rat. Circulat.Res. 6: 699 (1958)

17. BÜCHNER,F.u. M.SASAKI : Die Feinstruktur neuroektodermaler Zellen und der Neuralzellen von Triturus-Helvetikus-Keimen in der Norm und nach Sauerstoffmangel. Naturwissenschaften 52:4o2(1965)

18. BURKHARDT,R.K.a. G.KROPF : Solubilisation of mitochondrial proteins. Biochim.biophys.Acta (Amst.)9o: 396 (1964)

19. CALLISTER,B.D.a. A.L.BROWN : A quantitative study of myocardial mitochondria in experimental cardiac hypertrophy. Lab.Invest.14: 692 (1965)

20. CHRISTENSEN,A.K. : The fine structure of testicular interstitial cells in guinea pigs. J.Cell.Biol. 26: 911 (1965)

21. CIRDDLE,R.S., R.M.BOCK, D.E.GREEN a. H.TISDALE : Physical characteristics of proteins of the electron transfer system and interpretation of the structure of the mitochondrion. Biochemistry 1: 827 (1962)

22. COLLINS,G.H. : An electron microscopic study of remyelination in the brainstem of thiamin deficient rats. Amer.J.Path. 47: 259 (1966)

23. DALGAARD,O.Z. : Acute anuria and osmotic diuresis. Electron microscopy of human kidney biopsy material embedded in epon. Proc.Vth.Int.Congr.Electromicr., Philadelphia 2: 8 (1962)

24. DALTON,A.J. : A study of the Golgi material of hepatic and intertestinal epithelial cells with the electron microscope. Z.Zellforsch. 36: 252 (1952)

25. DALTON,A.J. : Golgi apparatus and secretion granules. In:Brachet a.Mirsky: The Cell. Academic Press, New York-London 1961

26. DALTON,A.J. a. M.D.FELIX : Cytological and cytochemical characteristics of the Golgi substance of epithelial cells of the epididymis- in situ - in homogenates and after isolation. Amer.J.Anat. 94: 171 (1954)

27. EPSTEIN,M.A. : The fine structural organisation of Rous tumour cells. J.biophys.biochem.Cytol. 3: 851 (1957)

28. FALLON,H.J., E.FREI III, J.D.DAVIDSON, J.S.TRIER a. D.BURK : Leukocyte preparation from human blood: Evalution of their morphologic and metabolic state. J.Lab.clin.Med. 59: 779 (1962)

29. FAWCETT,D.W. : Morphological consideration of lipid transport in the liver. Proc.Int.Symposium on Lipid-Transport, p.21o Ch.C.Thomas, Springfield Ill. 1964

30. FREEMAN,J.A. : The ultrastructure of the double membrane system of mitochondria. J.biophys.biochem.Cytol. 2: 353 (1956)

31. FREIREICH,E.J., G.JUDSON a. R.H.LEVIN : Separation and collection of leukocytes. Cancer Res. 25: 1516 (1965)

32. GANSLER,H. : Beitrag zum Problem der trüben Schwellung an Hand von elektronenmikroskopischen Untersuchungen. 6.Tagg.Dtsch.Ges.Elektronenmikr., Münster (1955)

33. GANSLER,H. et Ch.ROUILLER : Modifications physiologiques et pathologiques du chondriome. Étude au microscope électronique. Schweiz.Z.Path. 19: 217 (1956)

34. GRIMSTONE,A.V. : Cytoplasmatic membranes and the nuclear membrane in the flagellata Trichonympha. J.biophys.biochem.Cytol. 6: 369 (1959)

35. GOLDFISCHER,S. : The Golgi apparatus and the endoplasmatic reticulum in neurons of the rabbit. J.Neuropath.exp.Neurol. 23: 36 (1964)

36. HERDSON,P.B., P.J.GARVIN a. R.R.JENNINGS : Reversible biological and fine structural changes produced in rat liver by a thiohydantoin compound. Lab.Invest. 13: 1014 (1964)

37. HOLMBERG,A. : Changes in the ultrastructure of the ciliary epithelium during inhibition of the secretion of aqueous humour. Proc.Europ.Conf.,p.139, Stockholm (1956)

38. KACHEL,V. u. R.THOM : Fortschritte für die elektronische Größenbestimmung von Blutkörperchen. Blut 21: 48 (1970)

39. KALLENBACH,E., E.SANDBORN a. H.WARSHAWSKY : The Golgi apparatus of the ameloblast of the rat at the stage of enamel matrix formation. J.Cell.Biol. 16: 629 (1963)

40. KARLSON,P. : Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler, p.292, Georg Thieme, Stuttgart 1964

41. KURTZ,S.M. : A new method for embedding fissues in Vestopal W. J.Ultrastruct.Res. 5: 468 (1961)

42. LACY,D. : The Golgi apparatus in neurons and epithelial cells of the common limpet patella vulgata. J.biophys.biochem.Cytol. 3:779 (1957

43. LACY,D. a. C.E.CHALLICE : Studies on the Golgi apparatus by electron microscopy with particular reference to Aoyana's technique. J.biophy.biochem.Cytol.2:395(1956)

44. LAIRD,A.K.a. A.D.BARTON : Protein synthesis in rat pancreas. IV.Changes in the ultracellular distribution of pancreatic amylase during the secretory cycle. Biochim.biophys.Acta (Amst.) 27: 12 (1958)

45. LOW,F. a. J.A.FREEMAN : Electron microscopic atlas of normal and leucemic human blood. Mc Graw Hill Book Comp., New York 1958

46. MILLONIG,G. : Further observations a phosphate buffer for osmium solutions in fixation. Proc.Vth.Congr.Electronmicr., Philadelphia 2: 8 (1962)

47. MINOR,A.H. a. L.BURNETT : A method for isolating living polymorphonuclear leukocytes from peripheral blood. Blood 4: 667 (1949)

48. MÖLBERT,E. : Das Leberparenchym bei histotoxischer Oxydationshemmung im elektronenmikroskopischen Bild. Klin.Wschr.,646 (1957)

49. MÖLBERT,E. : Die Schädigung des Herzmuskels durch Oxydationshemmung im elektronenmikroskopischen Bild. Klin.Wschr.,337 (1957)

50. MÖLBERT,E. : Die Herzmuskelzelle nach akuter Oxydationshemmung im elektronenmikroskopischen Bild. Beitr.path.Anat. 118:421 (1958)

51. MÖLBERT,E. : Die chronische Muskeldystrophie im elektronenmikroskopischen Bild. Verh.dtsch.Ges.Path. 44: 215 (196o)

52. MÖLBERT,E. u. D.GUERRITORE : Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Leberparenchym bei akuter Hypoxie. Beitr.path.Anat. 117:32 (1957)

53. MOOR,H. : Die Gefrier-Fixation lebender Zellen und ihre Anwendung in der Elektronenmikroskopie. Z.Zellforsch. 62: 546 (1964)

54. MOOR,H., C.RUSKA u. H.RUSKA : Elektronenmikroskopische Darstellung tierischer Zellen mit der Gefrierätztechnik. Z.Zellforsch. 62: 581 (1964)

55. NIKLOWITZ,W. : Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Ammonshorn. II.Über die Substruktur der Pyramidenzellen nach Methoxypyridoxin-Vergiftung. Z.Zellforsch. 7o: 22o (1966)

56. NILSSON,O. : Ultrastructure of mouse uterine surface epithelium under different estrogenic influendes. IV.Uterine secretion. J.Ultrastruct.Res. 2: 331 (1959)

57. OGAWA,K. a. R.J.BARRNETT : Electron histochemical examination of oxydative enzymes and mitochondria. Nature,Lond. 2o3: 724 (1964)

58. PALADE,G.E. : The fine structure of mitochondria. Anat.Rec. 114: 427 (1952)

59. PALADE,G.E. : An electron microscope study of mitochondrial structure. H.Histochem.Cytochem. 1: 118 (1953)

6O. PALADE,G.E. : A small particulate component of the cytoplasm. J.appl.Physiol. 24: 1419 (1953)

61. PALADE,G.E. : Relations between the endoplasmatic reticulum and the plasma membrane in macrophages. Anat.Rec. 121: 445 (1955)

62. PALADE,G.E. : Intercisternal granules in the exocrine cells of the pancreas. J.biophys.biochem.Cytol.2:417(1956)

63. PETERSON,M.a. C.P.LEBLOND : Synthesis of complex carbohydrates in the Golgi region, as shown by radioautographic after injection of labeled glucose. J.Cell.Biol.21: 143 (1964)

64. POCHE,R. : Submikroskopische Beiträge zur Pathologie der Herzmuskelzelle bei Phosphorvergiftung, Hypertrophie, Atrophie und Kaliummangel. Virchows Arch.path.Anat.331:165 (1958)

65. PORTER,K.R. : The sarcoplasmatic reticulum. Its recent history and present status. J.biophys.biochem.Cytol. 1o: 219 (1961)

66. PRAGER,M.D., M.GOERNER a. N.MATTHEWS : Purification of human leukocytes. Proc.Soc.exp.Biol.Med.97: 726 (1958)

67. PRESCOTT,D.M. a. E.ZEUTHEN : Comparison of water diffusion and water filtration across cell surface. Acta physiol.scand.28: 77 (1953)

68. REYNOLDS,E.S. : The use of lead citrate at high pH an anelectron-opaque stain in electronmicroscopy. J.Cell.Biol. 17: 2o8 (1963)

69. RIGAS,D.A. : Phytohaemagglutination method of leukocyte separation. Amer.J.Med.1o: 776 (1951)

7O. ROBINEAUX,R., J.LEBRUN, R.KOURILOKY et A.DELANNAY : Sur un nouveau procédé d'obtention des leukocytes a partir du sang circulant. Ann.Inst.Pasteur 77: 71o (1949)

71. RUSKA,C. : Strukturelle Veränderungen der Darmschleimhaut unter dem Einfluß von destilliertem Wasser, Kochsalz- und Netzmittellösungen. 9.Tagg.Dtsch.Ges.Elektronenmikr., Freiburg (1959)

72. RUSKA,C. : Beobachtungen an experimentell im Zellinnern erzeugten Myelinfiguren. Z.Zellforsch. 59:134 (1963)

73. SABATINI,D.D., K.G.BENSCH a. R.J.BARRNETT : Cytochemistry and electronmicroscopy. The preservation of cellular ultrastructure and enzymatic activity by aldehyde fixation. J.Cell.Biol. 17: 19 (1963)

74. SCHAEFER,V.J.a. D.HARKER : Surface replicas for use in the electron microscopy. J.appl.Physiol. 13: 427 (1942)

75. SCHAFFNER,F.a. H.SASAKI : Induced cholestasis. Ultrastructural studies on drug. Rev.int.Hépat. 15: 461 (1965)

76. SCHMALBRUCH,H. : Über die Wirkungen von Alkali-und Erdalkali - Ionen (Na^+,K^+,Mg^{2+},Ca^{2+}) auf einige Strukturen des Zwerchfells der Maus. Z.Zellforsch. 62: 246 (1964)

77. SCHULZ,H. : Über den Gestaltwandel der Mitochondrien im Alveolarepithel unter CO_2- und O_2-Atmung. Naturwissenschaften 43:2o5 (1956)

78. SCHULZ,H. : Die Pathologie der Mitochondrien im Alveolarepithel der Lunge. Beitr.path.Anat. 119: 45 (1958)

79. SHMUKLER,H.W.a. B.D.POLIS : The nonprotein amino acids and related compounds of rat liver mitochondria. Analyt.Biochem. 9: 281 (1964)

80. SIEKEVITZ,P.a. M.L.WATSON : Cytochemical studies of mitochondria. I.The separation and identification of a membrane fraction from isolated mitochondria. J.biophys.biochem.Cytol. 2: 638 (1956)

81. SIEKEWITZ,P.a. M.L.WATSON : Cytochemical studies of mitochondria. II.Enzymes associates with a mitochondrial membrane fraction. J.biophys.biochem.Cytol. 2: 653 (1956)

82. SJÖSTRAND,F.S. : Electron microscopy of mitochondria and cytoplasmic double membranes. Nature,Lond. 171: 3o (1953)

83. SJÖSTRAND,F.S. : The ultrastructure of cells as revealed by the electron microscope. Int.Rev.Cytol. 5: 455 (1956)

84. SJÖSTRAND,F.S. : A comparison of plasma membrane, cytomembranes and mitochondrial membrane elements with respect to ultrastructural features. J.Ultrastruct.Res. 9: 561 (1963)

85. SJÖSTRAND,F.S.a. V.HANZON : Membrane structure of cytoplasma and mitochondria in exocrine cells of mouse pancreas as revealed by high resolution electron microscopy. Exp.Cell.Res. 7: 393 (1954)

86. SKOOG,W.A.a. W.S.BECK : Studies of the fibrinogen,dextran and phytohaemagglutinin methods of isolating leukocytes. Blood 11: 436 (1956)

87. SVOBODA,D. a. J.HIGGINSON : Ultrastructural changes produced by protein and related deficiencies in the rat liver. Amer.J.Path. 45: 353 (1964)

88. THOM,R. : Persönliche Mitteilung.

89. TULLIS,J.L. a. E.G.ROCHOW : Separation and purification of leukocytes and platelets. Blood 7: 891 (1952)

90. ULRICH,K. a. G.E.MOORE : Separation of viable leukocytes from normal human blood. Acta haemat.,Basel 35: 338 (1966)

91. VENABLE,J.H. a. R.COGGESHALL : A simplified lead citrate stain for use in electron microscopy. J.Cell.Biol. 25: 4o7 (1965)

92. WEISBLUM,B., L.HERMANN a. P.J.FITZGERALD : Changes in pancreatic acinar cells during protein deprivation. J.Cell.Biol. 12: 313 (1962)

93. WOHLFAHRT-BOTTERMANN,K.E.: Cytologische Studien IV. Z.Naturforsch. 12 C (1957)

Herrn Professor Dr.med.H. G e r h a r t z danke ich für die Überlassung des Themas und die hilfreiche Unterstützung bei der Anfertigung meiner Arbeit.

Bei Herrn Dr.med.R. T h o m bedanke ich mich für die Einweisung in die elektronenmikroskopische Präparationsmethodik und seine stete Hilfsbereitschaft bei der Lösung der damit verbundenen Probleme.

Mit Dankbarkeit erwähne ich an dieser Stelle auch Fräulein Ch. M e r x, die mir bei den medizinisch-technischen Arbeiten meiner Versuche half.

LEBENSLAUF

Am 1o.Oktober 1939 wurde ich als Tochter des Buchhalters Robert THARMANN und seiner Ehefrau Margarete THARMANN, geborene HÜBNER, in Berlin geboren. Ich besuchte in Berlin-Köpenick von 1946 bis 1954 die Grundschule und von 1954 bis 1958 den naturwissenschaftlichen Zweig der Oberschule, in der ich am 6.6.1958 die Reifeprüfung ablegte. Von Februar 1959 bis Herbst 1961 absolvierte ich ein Fernstudium für medizinisch-technische Assistentinnen, das ich im November 1961 mit dem Staatsexamen abschloß. Seit meiner Schulentlassung arbeitete ich während der Zeit des Fernstudiums und danach bis Mai 1962 am Pharmakologischen Institut der Humboldt-Universität Berlin als Hilfslaborantin, Laborantin und medizinisch-technische Assistentin.

Nach der Flucht unserer Familie im Mai 1962 nach West-Berlin bereitete ich mich auf die Ergänzungsprüfung zu meinem Abitur vor: ich bestand sie im September 1962 und studierte vom Wintersemester 1962/63 bis zum Sommersemester 1965 an der Medizinischen Fakultät der Albert-Ludwigs-Universität in Freiburg, wo ich am 25.1o.1965 die ärztliche Vorprüfung ablegte.

Vom Wintersemester 1965/66 bis Sommersemester 1969 studierte ich an der Freien Universität Berlin und legte dort am 21.8.1969 mein medizinisches Staatsexamen ab. Als Medizinalassistentin habe ich bisher 4 Monate in der Chirurgie und 5 Monate in der Inneren Medizin gearbeitet.

Am 3.8.1965 heiratete ich in Berlin den Rechtsanwalt Edmund PATTBERG.